10.22092/sppi.2019.121907

مجله به‌نژادی نهال و بذر
جلد ۱-۳۵، شماره ۲، سال ۱۳۹۸

شناسایی لاین‌های نگهدارنده نرعقیمی و برگرداننده باروری از برخی ارقام بومی و اصلاح‌شده برنج (*Oryza sativa* L.)

Identification of Male Sterile Maintainer and Fertility Restorer Lines from Iranian Landraces and Improved Cultivars of Rice (*Oryza sativa* L.)

عمار افخمی قادی[۱]، راحله خادمیان[۲]، قربانعلی نعمت‌زاده[۳]، نادعلی بابائیان جلودار[۴] و نادعلی باقری[۵]

۱- دانشجوی دکتری گروه ژنتیک و بهنژادی، دانشگاه بین‌المللی امام خمینی (ره)، قزوین، ایران.
۲- استادیار، گروه ژنتیک و به‌نژادی گیاهی، دانشگاه بین‌المللی امام خمینی (ره)، قزوین، ایران.
۳ و ۴- استاد، گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشکده کشاورزی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران.
۵- استادیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشکده کشاورزی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۲/۱۲ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۶/۱۵

چکیده

افخمی قادی، ع.، خادمیان، ر.، نعمت‌زاده، ق.، بابائیان جلودار، ن. و باقری، ن. ۱۳۹۸. شناسایی لاین‌های نگهدارنده نرعقیمی و برگرداننده باروری از برخی ارقام بومی و اصلاح‌شده برنج (*Oryza sativa* L.). **مجله به‌نژادی نهال و بذر ۱-۳۵:** ۱۳۶-۱۲۱.

پس از تولید لاین‌های خالص نرعقیم بومی پایدار شناسایی لاین‌های برگرداننده باروری مناسب از اولویت‌های اصلی تولید بذر برنج هیبرید می‌باشد. جهت مطالعه ظرفیت باروری ژنتیکی ۱۴ رقم بومی، اصلاح‌شده و خارجی برنج، آزمون تست‌کراس با استفاده از لاین نرعقیم ندا-A به عنوان والد مادری برای تولید F1ها در سال ۱۳۹۷ در مزرعه پژوهشی پژوهشکده ژنتیک و زیست‌فناوری کشاورزی طبرستان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، انجام شد. در زمان شروع گلدهی، میزان عقیمی و باروری دانه گرده F1ها با استفاده از محلول ید یدور پتاسیم آزمون شد. در پایان فصل رشد نیز صفات زراعی F1ها مثل تعداد روز تا ۵۰ درصد گلدهی، تعداد روز تا رسیدگی فیزیولوژیک، ارتفاع گیاه، تعداد پنجه بارور، طول خوشه، تعداد کل دانه در خوشه، تعداد دانه پر در خوشه، طول دانه، عرض دانه، وزن ۱۰۰ دانه، نسبت طول به عرض دانه، درصد باروری خوشه و عملکرد دانه اندازه‌گیری گردید. نتایج ارزیابی آزمون عقیمی دانه گرده و خوشه F1ها نشان داد که F_1 حاصل از رقم پرمحصول شیرودی و ندا-A، عقیمی کامل و صد درصد داشت که نشان‌دهنده نگهدارنده بودن رقم شیرودی بود به تعبیر دیگر دارای سیتوپلاسم نرمال و ژن هسته‌ای مغلوب برگرداننده باروری بود. با توجه به سطح زیر کشت وسیع‌تر این رقم در مقایسه با رقم ندا و کیفیت مناسب پیشنهاد می شود نرعقیمی به رقم شیرودی منتقل شده و در تولید برنج هیبرید مورد استفاده قرار گیرد. بنابراین با تلاقی برگشتی می‌توان به لاین نرعقیم شیرودی دست یافت. بیشترین تعداد دانه در خوشه (۲۱۷ دانه) مربوط به F_1 حاصل از رقم CB06-550 بود. بیشترین وزن صد دانه نیز مربوط به F_1 حاصل از رقم جهش در ندا-A بود که ناشی از عرض و طول بلند دانه بود. با ارزیابی آزمون دانه گرده و خوشه، ارقام بینام، پردیس و PR37181-1-1-1-2-1-2-1 بعنوان لاین‌های برگرداننده باروری ضعیف و لاین‌های شاهد IR50 (با بیش از ۹۶ درصد باروری) و IR67924R (با بیش از ۸۰ درصد باروری)، بعنوان لاین برگرداننده باروری شناخته شدند. از این لاین‌های نرعقیم می‌توان در تلاقی با لاین‌های برگرداننده باروری جهت تولید بذر هیبرید با عملکرد بیشتر از ارقام اصلاح شده مرسوم بهره برد. از سایر لاین‌های تولید شده در این پژوهش می‌توان در توسعه خزانه ژنی هتروتیک در برنامه فناوری هیبرید برنج استفاده نمود.

واژه‌های کلیدی: برنج، میزان عقیمی، دانه در خوشه، وزن ۱۰۰ دانه، تنوع ژنتیکی.

نگارنده مسئول: a.afkhami@sanru.ac.ir تلفن: ۰۱۱۳۳۶۸۷۷۴۷

مقدمه

جمعیت جهان تا سال ۲۰۵۰ میلادی با افزایش ۳۴ درصدی به حدود نه میلیارد نفر خواهد رسید. با توجه به افزایش جمعیت و شهرنشینی به تولید بیشتر غذا تا ۷۰ درصد (به غیر از مواد غذایی که در سوخت‌های زیستی استفاده می‌شوند) نیاز است (FAO, 2017). برنج یک محصول راهبردی در قاره آسیا و کشورهای در حال توسعه است. تقریباً ۹۰ درصد تولید و مصرف این محصول در آسیا انجام می‌شود.

توسعه پایدار در بخش کشاورزی، عاملی حیاتی برای تغذیه جهان در دهه‌های آتی است. این چالش در کشور ایران قابل تأمل است زیرا سهم ایران از نظر سطح زیر کشت برنج در جهان حدود ۰/۳۵ درصد یعنی حدود ۵۵۶۷۸۷ هکتار در سال ۲۰۱۶ بود، در حالیکه نسبت جمعیت ایران نسبت به جمعیت جهان حدود ۱/۰۵ درصد می‌باشد (FAO, 2017). از طرفی، محدودیت سطح زیر کشت و تغییر کاربری اراضی در کشور، به‌ویژه در شالیزارهای استان‌های شمالی کشور (گیلان و مازندران) یعنی مرکز اصلی تولید برنج کاملاً مشهود است. با بررسی آمارنامه‌های کشاورزی از سال ۱۳۹۰ تا ۱۳۹۵ حدود ۲۳۱۱ هکتار اراضی با تغییر کاربری غیر مجاز در این دو استان شناسایی شده‌اند (Anonymous, 2016).

یکی از روش‌های بسیار مهم در افزایش محصول در واحد سطح استفاده از هتروزیس و فن‌آوری برنج هیبرید است (Zhu *et al.,* 2017). از آنجاییکه ارقام هیبرید در مقایسه با ارقام برتر هر منطقه، می‌توانند تا ۳۰ درصد افزایش عملکرد داشته باشند، مسلماً نقش مهمی در تغذیه مردم خواهند داشت (Nematzadeh and Valizadeh, 2003).

در سال‌های اخیر تحقیقات گسترده‌ای در زمینه اصلاح هیبریدهای با کیفیت (دانه بلند و کیفیت پخت و خوراک مطلوب) در چین شروع شده است (Zhu *et al*., 2017; Feng *et al*., 2017). برنج هیبرید همچنین قابلیت ارتقای امنیت غذایی کشورهای فقیری را دارد که دارای زمین مستعد کشاورزی کم، جمعیت در حال افزایش و نیروی کار ارزان هستند.

توسعه برنج هیبرید در سال ۲۰۱۴ در چین به ۵۷ درصد کل سطح زیر کشت برنج رسید و این مساحت ۶۵ درصد تولید کل برنج در چین را تشکیل می‌دهد. میانگین عملکرد برنج در چین ۶/۴۵ تن در هکتار می‌باشد در حالیکه عملکرد برنج هیبرید در این کشور ۷/۵ تن در هکتار است که هر ساله غذای حدود ۷۰ میلیون نفر را تأمین می‌کند (Yuan, 2014).

نخستین گزارش از نر عقیم سیتوپلاسمی در برنج در سال ۱۹۵۴ توسط ویراراتنی و همکاران ثبت شده است. در سال ۱۹۷۲ اولین گروه از لاین‌های نرعقیم اصلاح و معرفی گردید و در سال بعد، تعدادی از لاین‌های بازگردان باروری غربال و شناسایی شد. اولین برنج هیبرید در دنیا

نیـــز در ســـال ۱۹۷۴ بنـــام Nanyou2 توســـط دانشمندان چینـی تولیـد شـد (Li *et al.,* 2007). استفاده از نرعقیمـی ژنتیکـی سیتوپلاسـمی بـرای تولید هیبریـد زمـانی میسر است کـه لایـن‌هـای نگهدارنـــده و برگرداننـــده بـــاروری مناســـب در دســـترس باشـــند. لاین‌هـــای نگهدارنـــده، جهـــت حفـــظ و تکثیـــر لاین‌هـــای نـــرعقیم بکـار می‌رونـد و همچنـین ژن‌هـای بـازگردان بـــاروری نیـــز در ژنـــوم هســـته‌ای، می‌تواننـــد بـــاروری را بـــه گیاهـــان نـــرعقیم برگرداننـــد (Nematzadeh and Valizadeh, 2003).

بررســـی تـــوارث ژن‌هـــای برگرداننـــده باروری نشـان می‌دهـد کـه ایـن صـفت می‌توانـد تـک ژنـی (Chen *et al.,* 1997) دو ژنـی (Bharaj *et al.,* 1991) یـا چنـد ژنـی (Teng and Shen, 1994) باشـد. بنـابراین بـا توجه به خصوصیات ارقام برنج ایرانی، در رابطـه با لاین‌های برگرداننده بـاروری کـه از نظـر دوره گلــدهی، ارتفــاع، زمــان رســیدگی و میــزان برگرداننـدگی بـاروری مطلـوب باشـد هنـوز در کشــور، لاین‌هــای مطلــوبی اصــلاح و معرفــی نشـده‌انـد. تنهـا بـرنج هیبریـدی کـه در کشـور معرفـی گردیـد رقـم هیبریـد دیلـم (بهـار ۱) بـا میـــانگین عملکـــرد ۷/۵ تـــن در هکتـــار بـــود (Karbalaei *et al.,* 2007) که با توجه بـه عـدم دانش فنی تولیدکنندگان و نبـود زیرسـاخت‌های لازم برای تولید بذرو وجود ارقام اصلاح شده بـا عملکرد بالا، با استقبال کشاورزان مواجه نشد.

سـطح زیـر کشـت ارقـام پرمحصـول اصـلاح شده در استان مازندران از ۷۷۳۶۰ هکتار در سـال ۱۳۸۷ بـه ۴۷۵۸۱ هکتـار در سـال ۱۳۹۴ کـاهش یافت (Alinia *et al.,* 2015) که از جمله دلایل آن می‌توان به دوره رسـیدگی طـولانی، مصـرف بالای آب و پایین بودن قیمت خرید تضمینی نـام برد. با توجه به چنـین مشـکلاتی در کشـور، لازم اســت تحقیقــات گســترده‌ای در ارزیـــابی و شناسایی لاین‌های نرعقیم و برگرداننـده بـاروری انجام گیرد و برنج هیبرید مطلوب ایرانی تولیـد و معرفی شود. محدودیت ارقام مناسب برگرداننـده باروری، تعداد کـم لاین‌هـای مـؤثر و سـازگار و پایه محدود ژنتیکی آن‌هـا، همـواره از مشـکلات اساسی تولید بذر بـرنج هیبریـد در کشـور بـوده است، با این وجود بـا پیشـرفت روش‌هـای نـوین به‌نژادی، اقدامات قابل توجهی در زمینـه اصـلاح و معرفـی لاین‌هـای جدیـد برگرداننـده بـاروری صورت گرفته است (Bagheri, 2011).

قلـــــــی‌زاده قـــــــرا و همکـــــــاران (Gholizadeh Ghara *et al.,* 2012) به منظـور مشخص نمودن والدین نگهدارنـده و برگرداننـده باروری در هیبریدهای برنج از پنج لایـن نـرعقیم سیتوپلاســمی و ۱۰ لایــن خــالص بعنــوان تســتر استفاده نمودند. بررسـی بـاروری در جمعیـت F_1 نشـان داد کـه والـد IR-9 بـرای کلیـه تلاقـی‌هـا بعنوان برگرداننده باروری شناسـایی شـد، بعـلاوه تجزیـه مولکـولی وجـود ژن‌هـای *Rf* را تنهـا در IR-9 تأییـــد نمـــود. شـــارما و همکـــاران (Sharma *et al.,* 2012) به منظـور ارزیابی‌هـای مزرعه‌ای جهت شناسایی برگرداننـده بـاروری از

تست دانه گرده در روش تلاقی لاین در تستر استفاده کردند. بر این اساس طبقه‌بندی انجام شده نشان داد، باروری کمتر از یک درصد به عنوان نگهدارنده مؤثر، باروری بین ۲۰-۱ درصد به عنوان نگهدارنده ضعیف، باروری بین ۸۰-۲۱ درصد به عنوان برگرداننده باروری ضعیف و باروری بین ۱۰۰-۸۱ درصد به عنوان برگرداننده باروری مؤثر شناخته می‌شود.

افخمی قادی و همکاران (Afkhami Ghadi *et al.,* 2014a) در ارزیابی صفات مؤثر بر میزان دگرگشنی لاین‌های نرعقیم سیتوپلاسمی برنج ایرانی بیان داشتند که لاین‌های نرعقیم سیتوپلاسمی با طول بساک و اندازه گلچه بزرگتر و خروج خوشه بیشتر، درصد تشکیل بذر هیبرید بیشتری داشتند. آن‌ها لاین نرعقیم IR69224A را که دارای عقیمی کامل گرده و درصد دگرگشنی بالایی بود را شناسایی کردند. نعمت‌زاده و کیانی (Nematzadeh and Kiani, 2010) در مطالعه ژن برگرداننده باروری برنج برای سیتوپلاسم نوع WA بیان داشتند که هیبرید حاصل از لاین DN-33-18 در تلاقی با لاین نرعقیم ندا، بیش از ۸۰ درصد باروری گرده نشان داد. علی رغم تحقیقات متعدد در رابطه با تولید لاین‌های برگرداننده باروری در کشور هنوز این مهم محقق نشده است.

عیدی و همکاران (Eidi *et al.,* 2015) در انتخاب لاین‌های برگرداننده باروری با استفاده از شاخص‌های مورفولوژیک و مولکولی بیان داشتند که پنج لاین بعنوان بازگردان باروری بالقوه تشخیص داده شدند. کای و همکاران (Cai *et al.,* 2013) دو رقم ایندیکای IR24 و IR64 را که دارای ژن‌های حامل ژن‌های برگرداننده باروری شامل *Rf3* و *Rf4* بودند گزارش نمودند. اصلاح و تولید این دو رقم برای تولید لاین‌های نرعقیم از لاین‌های برگرداننده باروری با استفاده از سیستم CW-CMS/Rf17 انجام شد (Toriyama and Kazama, 2016). دالماسیو و همکاران (Dalmacio *et al.,* 1995) در مطالعه خود، دو لاین نرعقیم شناسایی نمودند که یکی از آنها لاین IR67707A بود که دارای سیتوپلاسم گونه *O. perennis* و هسته لاین IR64 و نرعقیمی کامل و پایدار داشت.

افخمی قادی و همکاران (Afkhami Ghadi *et al.,* 2014b) همکاران در مطالعه میزان پایداری نرعقیمی در تعدادی از لاین‌های نرعقیم سیتوپلاسمی در برنج با ارزیابی در دوره‌های مختلف، عقیمی کامل و پایدار بعضی از لاین‌ها را گزارش دادند. کیانی (Kiani, 2012) با استفاده از تجزیه خوشه‌ای و تجزیه مولفه‌های اصلی، تنوع برخی از لاین‌های برگرداننده باروری برنج از طریق بررسی صفات زراعی را گزارش نمود. صادقی و همکاران (Sadeghi *et al.,* 2014) گزارش دادند که جایگاه ژنی *Rf3* تأثیر متقابلی با نرعقیمی سیتوپلاسمی نوع WA در جهت افزایش باروری دانه گرده و خوشه برنج دارد. پریانکا و

همکاران (Mohana Priyanka *et al*., 2016) در تشخیص ژنوتیپ‌های نگهدارنده و برگرداننده باروری، ۲۰ ژنوتیپ بومی سازگار را توسط دو لاین CMS تست نمودند که در نهایت شش ژنوتیپ برگرداننده باروری و هشت نگهدارنده نر عقیمی شناسایی شدند.

با توجه به فقدان ارقام بومی برگرداننده باروری و لاین‌های نگهدارنده نر عقیمی مطلوب در کشور، هدف از اجرای این پژوهش شناسایی و معرفی لاین‌های نگهدارنده نرعقیمی و برگرداننده باروری بومی از منابع ژنتیکی ارقام بومی و اصلاح‌شده از طریق آزمون مزرعه‌ای و تست‌کراس بود.

مواد و روش‌ها

در این پژوهش مواد گیاهی شامل ۱۴ رقم برنج بومی، اصلاح‌شده و برگرداننده باروری (شاهد) بعنوان والد پدری (جدول ۱) و نر عقیم سیتوپلاستی (CMS) و لاین ندا-A بعنوان والد مادری در سال ۱۳۹۶ مورد مطالعه قرار گرفت. لاین ندا-A و ارقام والدینی از بخش فنی تحقیقاتی پژوهشکده ژنتیک و زیست‌فناوری کشاورزی طبرستان وابسته به دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری و لاین برگرداننده باروری خارجی به عنوان لاین شاهد از مرکز بین‌المللی تحقیقات برنج (International Rice Research Institute = IRRI) تهیه شد. لاین ندا- A اولین لاین نرعقیم تغییرشکل یافته سیتوپلاسمی می‌باشد که از تلاقی‌های برگشتی رقم ندا با لاین نرعقیم IR58025A حاصل شد (Nematzadeh *et al.,* 2006; Nematzadeh and Sattari, 2003).

در زمان کاشت خزانه برای اطمینان از هماهنگی زمان گلدهی، والد پدری در سه تاریخ متفاوت و لاین نرعقیم نیز در دو تاریخ با فاصله یک هفته کشت گردیدند. نشاکاری نیز به فاصله یک ماه از کاشت خزانه و در مرحله چهار الی پنج برگی شدن گیاهچه‌ها در دو تاریخ انجام شد. کلیه‌ی عملیات زراعی از قبیل آبیاری، کوددهی، کنترل علف‌های هرز و آفات و بیماری‌ها مطابق روش‌های معمول در منطقه و توصیه‌های کارشناسی انجام گردید.

با شروع گلدهی در لاین نرعقیم سیتوپلاسمی ندا- A، تلاقی با روش تست‌کراس با والد پدری جهت تولید بذر F_1 انجام شد. یک روز قبل از تلاقی، بوته‌های نرعقیم با توجه به ویژگی‌های گلچه‌ای (بساک سفید چروکیده) و تأیید عقیمی کامل با آزمون دانه گرده (ارزیابی ده گلچه از هر خوشه) با محلول ید یدور پتاسیم یک درصد (Virmani *et al.,* 1997) از مزرعه انتخاب شدند.

در روز انجام تلاقی، خوشه‌های لاین‌های پدری که در مزرعه حدود دو سوم خوشه آن‌ها خارج شده بود از بوته‌ها جدا و در شرایط مناسب دمایی، رطوبتی و نوری فراوری شدند تا گرده موردنیاز فراهم شود. سپس در ساعت ۱۲ تا ۱۴ این خوشه‌ها، روی بوته‌های نرعقیمی

جدول ۱- اسامی و ویژگی‌های ژنوتیپ‌های برنج مورد استفاده جهت تلاقی با لاین نرعقیم ندا-A

Table 1. Names and characteristics of rice genotypes used for crossing with Neda- A

ردیف No.	واریته Variety	شجره Pedigree	Grain type	تیپ دانه	منشأ Origin	روز تا رسیدگی فیزیولوژیک Dayes to physiological maturity	عملکرد دانه (تن در هکتار) Grain yield (t.h^{-1})	منبع Reference
1	Binam	Local Selection	Medium	متوسط	Iran	120	5.0	-
2	Sadri	landraces	Long	بلند	Iran	120	4.2	-
3	Sarde Binam	landraces	Long	بلند	Iran	135	4.4	-
4	Pardis	Amol3/Domsuah // Sange jo/ Sepidrood	Long	بلند	Iran	118	5.2	Nematzadeh *et al.,* 2010
5	Jahesh	Mutant of Tarom mahali	Long	بلند	Iran	115	5.5	Afkhami *et al.,* 2011
6	Keshvari	Amol3/Binam//	Long	بلند	Iran	130	7.5	Aliania *et al.,* 2015
7	Shiroodi	Deilamani/Khazar	Long	بلند	Iran	138	7.5	Aliania *et al.,* 2015
8	Neda	Hasansaraiy/Sangetarom/Amol 3	Long	بلند	Iran	140	7.5	Aliania *et al.*, 2015
9	IR 50	IR 2153-14-1-6-2 / IR 28 // IR 2071-625-1-252	Round	گرد	IRRI	127	4.9	(IIRON 2012)
10	CB06-550	ADT 43/IET 16618	Long	بلند	IRRI-India	123	4.4	(IIRON 2012)
11	PR37181-1-1-2-1-2-1	PSB Rc / PR31563	Long	بلند	IRRI	138	4.3	(IIRON 2012)
12	IR70416-53-2-2	IR 66295-71-2/IR 66696-97-4-3-1	Long	بلند	IRRI	137	4.0	(IIRON 2012)
13	OM 6378	TYPE3/JASMINE 85	Long	بلند	IRRI-Vietnam	135	4.7	(IIRON 2012)
14	IR67924R	-	Long	بلند	IRRI	123	5.0	-

که گلچه‌های آن با قیچی به صورت اریب برش داده شد تکان داده شدند تا گرده پاشیده شود. در نهایت خوشه‌های تلاقی داده شده با کاغذ سلوفان جهت حفظ رطوبت و عدم حضور گرده بیگانه پوشانده شدند. بذور F_1 حاصل از تلاقی لاین‌های والدینی حدود ۳۰ روز پس از تلاقی برداشت و نگهداری شد.

در بهار سال دوم (۱۳۹۷) کلیه F_1ها در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار کشت گردیدند. در زمان شروع گلدهی، میزان عقیمی و باروری دانه گرده F_1ها با استفاده از محلول ید یدور پتاسیم ارزیابی و گروه‌بندی شدند. بدین طریق که یک قطره از محلول ید یدور پتاسیم یک درصد به بساک‌هایی که از ده گلچه انتخاب و در زیر لامل له شده بودند اضافه گردید و دانه‌های گرده، زیر میکروسکوپ با بزرگنمایی ۱۰ در سه میدان دید، بررسی شد. دانه‌های گرده بارور به علت دارا بودن نشاسته، در مجاورت محلول ید یدور پتاسیم به رنگ سیاه توپر ظاهر شدند. نهایتاً نسبت تعداد دانه‌های گرده بارور به کل دانه‌های گرده محاسبه و بعنوان صفت باروری دانه گرده لحاظ گردید (IRRI, 2013).

در طول فصل رشد و زمان رسیدگی F_1ها، صفات تعداد روز تا ۵۰ درصد گلدهی، تعداد روز تا رسیدگی، ارتفاع بوته، تعداد پنجه بارور، طول خوشه، تعداد کل دانه در خوشه، تعداد دانه پر در خوشه، طول دانه، عرض دانه، وزن ۱۰۰ دانه، نسبت طول به عرض دانه، درصد باروری خوشه (نسبت تعداد دانه پر به تعداد کل دانه در هر خوشه) و عملکرد دانه (میانگین ده گیاه) اندازه‌گیری و یادداشت برداری شدند.

تجزیه واریانس داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۶ مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد انجام شد.

نتایج و بحث

تجزیه واریانس داده‌های صفات اندازه‌گیری‌شده در F_1های برنج مورد استفاده در این تحقیق نشان داد که برای کلیه صفات بجز تعداد دانه در خوشه تفاوت معنی‌داری بین F_1ها در سطح احتمال یک درصد وجود داشت (جدول ۲ و ۳) که نشان‌دهنده تنوع و تفاوت بین ژنوتیپ‌ها می‌باشد.

مقایسه میانگین نشان داد که دو F_1 حاصل از تلاقی ندا–A با دو رقم کشوری و IR70416-53-2-2 تعداد روز تا ۵۰ درصد گلدهی کوتاهتری داشتند و زودرس‌تر بودند (جدول ۴). همچنین F_1 حاصل از رقم پردیس زودرس‌ترین F_1 بود البته کلیه F_1ها در گروه رسیدگی متوسط‌رس تا ۱۱۸ روز (از کاشت خزانه تا رسیدگی فیزیولوژیک) قرار داشتند. رسیدگی زودهنگام با توجه به کمبود منابع آب در سال‌های اخیر از اهمیت فراوانی برخوردار است ضمن اینکه، در تولید بذر هیبرید نیز بایستی دو لاین والدینی از نظر رسیدگی و زمان گلدهی، همزمان باشد تا بیشترین مقدار تولید

جدول ۲- تجزیه واریانس برای صفات زراعی و مورفولوژیکی F_1های برنج

Table 2. Analysis of variance for agronomic and morphological traits in rice F_1s

S.O.V.	منبع تغییر	درجه آزادی df	تعداد روز تا ۵۰ درصد گلدهی Days to 50% of flowering	تعداد روز تا رسیدگی فیزیولوژیکی Days to physiological maturity	ارتفاع گیاه Plant height	تعداد پنجه بارور Fertile tiller number	طول خوشه Panicle length	تعداد دانه در خوشه Grain number per panicle	تعداد دانه پر در خوشه Filled grain number per panicle
Replication	تکرار	2	0.5	1.16^{*}	2.59	2.59	0.92	92.21	79.23
Genotype	ژنوتیپ	13	65.98^{**}	17.65^{**}	1652.85^{**}	10.96^{**}	18.72^{**}	1482.23^{ns}	7977.82^{**}
Error	خطای آزمایشی	26	0.55	0.32	6.92	0.77	2.06	955.67	296.62
C.V. (%)	درصد ضریب تغییرات	-	0.81	0.49	2.08	5.12	4.75	18.37	21.59

** : Significant at the %1 probability level.

**: معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد.

جدول ۳- تجزیه واریانس برای صفات عقیمی و باروری خوشه، خصوصیات فیزیکی دانه و عملکرد دانه F_1های برنج

Table 3. Analysis of variance for panicle sterility and fertility, grain physical characteristics and grain yield in rice F_1s

S.O.V.	منبع تغییر	درجه آزادی df	طول دانه Grain length	عرض دانه Grain width	وزن ۱۰۰ دانه 100 grain weight	عملکرد دانه (تک گیاه) Grain Yield plant^{-1}	عقیمی دانه گرده Pollen sterility	باروری خوشه Panicle fertility	عقیمی خوشه Panicle sterility	نسبت طول به عرض دانه Grain length : width ratio
Replication	تکرار	2	0.08	0.0	0.01	9.83	21.71	28.18	28.18	0.01
Genotype	ژنوتیپ	13	1.45^{**}	0.13^{**}	3.39^{**}	2551.02^{**}	1988.75^{**}	2791.74^{**}	2791.74^{**}	0.65^{**}
Error	خطای آزمایشی	26	0.17	0.02	0.04	3.19	50.45	50.68	50.68	0.11
C.V. (%)	درصد ضریب تغییرات	-	4.02	6.76	2.6	3.62	9.48	14.67	13.82	7.8

** : Significant at the %1 probability level.

**معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد.

شناسایی لاین‌های نگهدارنده نرعقیمی و برگرداننده باروری...

جدول ۴- مقایسه میانگین صفات زراعی و مورفولوژیکی F_1های برنج

Table 4. Mean comparison of agronomic and morphological traits of rice F_1s

هیبرید Hybrid	تعداد روز تا ۵۰ درصد گلدهی Days to 50% of flowering	تعداد روز تا رسیدگی فیزیولوژیکی Days to physiological maturity	ارتفاع گیاه (سانتیمتر) Plant Height (cm)	تعداد پنجه بارور Fertile tiller number	طول خوشه (سانتیمتر) Panicle Length (cm)	تعداد دانه در خوشه Grain number per panicle	تعداد دانه پر در خوشه Filled grain number per panicle
1	88.67	113.33	153.67	17.33	34.70	153.00	70.33
2	93.33	113.33	158.33	18.00	31.77	152.33	111.33
3	96.33	117.33	172.00	16.00	33.73	209.00	30.67
4	87.67	110.67	119.00	16.00	28.73	137.33	87.00
5	94.00	115.33	158.67	15.67	33.17	156.33	37.67
6	85.33	113.33	115.67	19.00	29.27	157.67	57.33
7	96.33	117.33	114.33	16.33	30.97	182.00	0.00
8	97.33	118.33	98.33	20.00	28.63	178.67	0.00
9	87.67	114.33	110.33	19.67	30.93	156.33	150.33
10	92.00	111.00	108.33	16.00	30.50	217.00	156.00
11	87.33	111.33	110.67	18.33	26.33	171.67	125.67
12	85.00	114.33	121.67	17.67	28.43	167.33	96.33
13	98.33	116.33	120.00	12.67	26.73	154.00	63.33
14	87.67	113.33	109.67	17.67	26.73	162.33	130.33
Mean	91.21	114.26	126.48	17.17	26.73	168.21	79.74
LSD 1%	1.24	0.95	4.41	1.47	2.41	51.88	28.90

بذر تولید شود.

بلندترین ارتفاع گیاه مربوط به F_1های حاصل از ارقام بینام، صدری، سرد بینام و جهش بود (جدول ۴). این ارقام عموماً پابلند هستند. ارتفاع گیاه بین ۱۱۰ تا ۱۳۰ سانتی‌متر، ارتفاع مناسبی است و F_1های دارای این ارتفاع مطلوب‌تر هستند. ارتفاع مناسب گیاه از ویژگی مطلوب ارقام جهت برداشت مکانیزه و کودپذیری برنج نیز می‌باشد. کوتاه‌ترین F_1 هم از تلاقی با رقم ندا به دست آمد. از آنجا که تلاقی رقم ندا با ندا-A جهت حفظ و نگهداری ندا-A بکار می‌رود F_1 حاصل صد درصد عقیم و خوشه آن خروج کامل ندارد، بنابراین ارتفاع گیاه نیز کاهش می‌یابد. افخمی قادی و همکاران (Afkhami Ghadi *et al.,* 2014a) نیز در ارزیابی صفات مؤثر بر میزان دگرگشنی لاین‌های نرعقیم سیتوپلاسمی برنج ایرانی، خروج ناقص خوشه رقم نرعقیم ندا را گزارش نمودند.

بلندترین طول خوشه مربوط به F_1 حاصل از رقم بینام بوده که با F_1 حاصل از ارقام سرد بینام و جهش تفاوت معنی‌داری نداشت. بیشترین تعداد دانه در خوشه (۲۱۷ دانه) نیز مربوط به F_1 حاصل از رقم CB06-550 بود (جدول ۴). تعداد دانه در خوشه بیشتر در F_1ها نسبت به ارقام والدینی، باعث افزایش عملکرد دانه می‌شود. طول دانه F_1های مورد مطالعه بیشتر از ۹/۳۱ و کمتر از ۱۱/۴۲ بود (جدول ۴). مصرف‌کننده‌های داخلی در کشور برنج‌های دانه بلند را ترجیح می‌دهند، بنابراین در تولید برنج هیبرید نیز باید به این نکته مهم توجه نمود. عرض دانه برنج F_1ها هم از ۲/۱۳ تا ۲/۸۲ بوده که برنج استخوانی مقبول‌تر می‌باشد.

بیشترین وزن صد دانه، مربوط به F_1 حاصل از رقم جهش × ندا-A با وزن ۳/۵۲ گرم بود که ناشی از عرض و طول بلند دانه بود (جدول ۴). والد پدری این F_1 یعنی رقم جهش نیز دارای وزن صد دانه بالایی است و البته این رقم درصد باروری خوشه بالایی نیز داشت (Afkhami Ghadi *et al.,* 2011). بیشترین عملکرد دانه مربوط به F_1 حاصل از تلاقی ندا-A × PR37181-1-1-2-1-2-1 با ۹۰/۳۳ گرم در گیاه بود که ناشی از تعداد دانه پر در خوشه، باروری دانه گرده و خوشه بالا (۷۳/۸۰) بود (جدول ۵). این F_1 را می‌توان بعنوان پرمحصول‌ترین F_1 معرفی نمود. F_1های حاصل از ارقام پردیس، IR-50 و کشوری نیز دارای عملکرد بالایی بودند.

ترنگ و بخشی‌پور (Tarang and Bakhshipour, 2015) در مطالعه خصوصیات زراعی و عملکرد دانه ارقام و لاین‌های امیدبخش برنج هیبرید، دو هیبرید IR80126H و IR80127H را به دلیل دارا بودن خصوصیات زراعی مطلوب (ایستادگی بوته، برگ‌های پرچم عمودی و تعداد پنجه مناسب)، وزن خوشه بالاتر و عملکرد بیشتر انتخاب کردند. بیشترین میزان باروری خوشه بعد از لاین PR37181-1-1-2-1-2-1 متعلق به لاین IR50

جدول ۵- مقایسه میانگین عقیمی و باروری خوشه، خصوصیات فیزیکی دانه و عملکرد دانه F_1های برنج

Table 5. Mean comparison of panicle sterility and fertility, grain physical characteristics and grain yield of rice F_1s

هیبرید Hybrid	طول دانه (سانتی‌متر) Grain Length (cm)	عرض دانه (سانتی‌متر) Grain Width (cm)	وزن ۱۰۰ دانه (گرم) 100 grain Weight (g)	عملکرد دانه (گرم در گیاه) Grain Yield (g plant^{-1})	درصد عقیمی دانه گرده Pollen Sterility (%)	درصد باروری خوشه Panicle Fertility (%)	درصد عقیمی خوشه Panicle Sterility (%)	نسبت طول به عرض دانه Grain length : width ratio
1	10.65	2.63	3.16	42.22	66.67	45.96	54.04	4.07
2	11.09	2.67	3.15	64.89	93.67	73.39	26.61	4.15
3	9.99	2.82	2.75	21.65	86.33	14.40	85.60	3.56
4	11.42	2.13	2.55	77.96	43.33	64.16	35.84	5.37
5	10.76	2.73	3.52	31.60	89.00	24.42	75.58	3.95
6	11.20	2.30	2.81	75.64	89.33	35.39	64.61	4.87
7	10.87	2.58	0.00	0.00	100.00	0.00	100.00	4.20
8	10.66	2.38	0.00	0.00	100.00	0.00	100.00	4.47
9	10.06	2.18	2.93	76.99	50.00	96.15	3.85	4.67
10	9.31	2.41	2.40	43.36	90.67	71.40	28.60	3.85
11	10.03	2.30	2.53	90.33	40.00	73.80	26.20	4.37
12	9.52	2.45	2.50	70.04	91.67	59.17	40.83	3.89
13	9.87	2.29	2.85	34.25	86.33	40.65	59.35	4.33
14	9.38	2.33	2.41	62.15	21.00	80.06	19.94	4.05
Mean	10.34	2.44	2.40	49.36	74.86	48.50	51.50	4.27
LSD 1%	0.69	0.27	0.10	3.00	11.92	11.94	11.94	0.56

(بیش از ۹۶ درصد باروری) و لاین شاهد IR67924R بود که بیش از ۸۰ درصد باروری داشتند و بعنوان لاین برگرداننده باروری مؤثر شناسایی شدند. در بررسی سینگ و همکاران (Singh *et al.,* 2014) از غربال ۱۰۰ لاین به‌نژادی با استفاده از نشانگر مولکولی SSR لینک با ژن‌های RF3 و RF4، مشخص شد تعداد ۶۱ لاین دارای هر دو ژن برگرداننده باروری بودند، از این تعداد ۱۸ لاین انتخاب و با شش لاین CMS تلاقی داده شدند. تعدادی از هیبریدها دارای بیش از ۹۰ درصد باروری سنبلچه بودند.

با توجه به صفت برگرداننده باروری خوشه و دانه گرده در F_1های مورد مطالعه مشخص گردید که ارقام بینام، پردیس و PR37181-1-1-2-1-2-1 بعنوان لاین‌های برگرداننده باروری ضعیف شناخته می‌شوند. نتایج ارزیابی آزمون عقیمی دانه گرده و خوشه F_1ها نشان داد که F_1 حاصل از رقم پرمحصول شیرودی × ندا-A، عقیمی کامل و صد درصد داشت که نشان‌دهنده نگهدارنده بودن این رقم بود، به تعبیر دیگر دارای سیتوپلاسم نرمال و ژن هسته‌ای مغلوب *rf* می‌باشد (Nematzadeh and Valizadeh, 2003).

با توجه به ظرفیت ژنتیکی بالای رقم شیرودی (عملکرد بیشتر از ارقام پرمحصول همچون نعمت، ندا و دشت (Mohadesi, 2010) و رسیدگی زودتر نسبت به رقم ندا، به نظر می‌رسد در تولید بذر برنج هیبرید مطلوب‌تر باشد. بنابراین با پنج الی شش تلاقی برگشتی می‌توان به لاین نرعقیم شیرودی دست یافت و سیتوپلاسم کنترل‌کننده عقیمی را به آن انتقال داد. عقیمی کامل گرده و خوشه CMS لاین‌هایی همچون ندا، نعمت و شصتک‌محمدی در ارزیابی تعدادی ازلاین‌های به‌نژادی CMS برنج بر اساس رفتار عقیمی، باروری و خصوصیات آلوگامی توسط افخمی و همکاران گزارش گردیده است (Afkhami Ghadi *et al.,* 2012).

علی‌رغم ویژگی‌های مطلوب این ارقام، اما صفاتی نامطلوب همچون دیررسی موجب شده است تا از این لاین‌های CMS در تولید بذر هیبرید استفاده نشود. نعمت‌زاده و ستاری (Nematzadeh and Sattari, 2003) در مطالعه ژنوم هسته‌ای بعضی از ارقام پرمحصول برنج در کنترل باروری برای تولید بذر هیبرید برنج، هیبریدهای حاصل از ارقام نعمت، ندا، آمل ۳ و چمپا با والد مادری IR58025A را کاملاً عقیم و این ارقام را بعنوان منابع جدید نگهدارنده نرعقیمی سیتوپلاسمی معرفی نمودند.

نتیجه‌گیری

در پژوهش حاضر با آزمون عقیمی گرده و ارزیابی خصوصیات مورفولوژیکی F_1های مختلف برنج مشخص گردید تنوع و تفاوت بین ژنوتیپ‌ها محرز و رقم پرمحصول شیرودی بعنوان لاین نگهدارنده عقیمی بود و می‌توان از آن در توسعه لاین‌های نرعقیم بهره برد، چون نسبت به رقم ندا در حال حاضر سطح زیر کشت

بیشتری دارد و کیفیت دانه آن نیز بهتر است.

ارقـــــــام بینـــــــــام، پــــــــــردیس و PR37181-1-1-2-1-2-1 نیـز بعنـوان لاین‌هـای برگرداننده باروری ضعیف و لاین‌های IR50 (با بیش از ۹۶ درصد باروری) و شاهد IR67924R (بـا بـیش از ۸۰ درصـد بـاروری)، بعنـوان لایـن برگرداننده باروری شـناخته شـدند. در نهایـت از لاین نگهدارنده عقیمی این پـژوهش می‌تـوان بـا چنـد تلاقـی برگشـتی بـه لایـن نـرعقیم مطلـوب رسـید و از لاین‌هـای برگرداننـده بـاروری نیـز می‌توان در تحقیقات بعدی برای تولید بذر بـرنج هیبرید استفاده کرد.

سپاسگزاری

ایـن مقالـه نتـایج قسـمتی از رسـاله دکتـری در گـروه مهندسـی ژنتیـک و بـه‌نـژادی گیـاهی دانشـگاه بـین‌المللـی امـام خمینـی (ره) قـزوین را ارائـــه مـــی‌کنـــد. نگارنـــدگان بدینوســـیله از مـدیریت محتـرم پژوهشـکده ژنتیـک و زیسـت فناوری کشاورزی طبرسـتان وابسـته بـه دانشـگاه علــوم کشــاورزی و منــابع طبیعــی ســاری بــه خــاطر تــأمین اعتبــار و در اختیــار قــرار دادن امکانات مزرعـه‌ای و آزمایشـگاهی سپاسـگزاری می‌کنند.

References

Afkhami Ghadi, A., Babaeian Jelodar N. A., and Bagheri, N. A. 2014a. Evaluation of allogamic characteristics for Iranian rice cytoplasmic. Journal of Crop Breeding 6 (13): 61-72 (in Persian).

Afkhami Ghadi, A., Babaeian Jelodar N. A., and Bagheri, N. A. 2014b. Evaluation of sterility stability for some of rice cytoplasmic male sterile lines. Journal of Crop Breeding 7 (15): 14-23 (in Persian).

Afkhami Ghadi, A., Babaeian Jelodar, N. A., and Bagheri, N. A. 2012. Evaluation of improved rice CMS lines according to sterility, fertility and allogamy characteristics (*Oryza sativa* L.). Modern Genetics Journal 7 (4): 397-408 (in Persian).

Afkhami Ghadi, A., Babaeian Jelodar, N. A., Pirdashti, H., Bagheri, N. A., Hasan Nataj, E., and Khademian, R. 2011. Effect of source and sink limitation on grain yield and yield components of three rice genotypes under levels of nitrogen fertilizer. Iranian Journal of Crop Sciences 13 (3): 495-509 (in Persian).

Alinia, F., Noori Delavar, M. Z., Hoseini M., Erfani, R., Ghodsi, M., Karbalaei, M. T., Khazaei. L., Omrani, M., Fathi, N., and Seyedjavadi, S. Z. 2015. The evolution of country rice production through the introduction of high-quality cultivars. Agricultural

Research and Extension Organization. Rice Research Institute of Iran. 64 pp.

Anonymous. 2016. Agricultural Statistics. Ministry of Jihad-e-Agriculture, Deputy Director of Planning and Economics, ICT.

Bagheri, N. A., and Babaeian-Jelodar, N. A. 2011. Genetics and combining ability of fertility restoration of 'wild abortive' cytoplasmic male sterility in rice. African Journal of Biotechnology 10 (46): 9314-9321.

Bharaj, T. S., Bains S. S., and Gagneja, M. R. 1991. Genetics of fertility restoration of wild abortive cytoplasmic male sterility in rice (*Oryza sativa* L.) Euphytica 56 (3): 199-203.

Cai, J., Liao, Q. P., Dai, Z. J., Zhu, H. T., Zeng, R. Z., Zhang, Z. M., and Zhang, G. Q. 2013. Allelic differentiation and effects of the Rf_3 and Rf_4 genes on fertility restoration in rice with wild abortive cytoplasmic male sterility. Biologia Plantarum 57 (2): 274–280.

Chen, X., Temnykn, S., Xu, Y., Cho, Y. G., and McCouch, S. R. 1997. Development of a microsatellite framework map providing genome- wide coverage in rice (*Oryza sativa* L.). Theoretical and Applied Genetics 95 (4): 553-567.

Dalmacio, R. D., Brar, D. S., Ishii, T., Sitch, L. A., Virmani, S. S., and Khush, G. S. 1995. Identification and transfer of a new cytoplasmic male sterility source from *Oryza perennis* into Indica rice (*Oryza sativa*). Euphytica 82 (3): 221-225.

Eidi Kohnaki, M., Kiani, G., Nematzadeh, G. A. 2015. Morphological and molecular selection of fertility restorer gene(s) in segregation populations of rice. The Plant Production 38 (2): 89-98 (in Persian).

FAO. 2009. How to feed the world in 2050. www.FAO.org. 35 pp.

FAO. 2017. Database collection. www.FAO.org.

Feng, F., Li, Y., Qin, X., Liao, Y., and Siddique. K. 2017. Changes in rice grain quality of Indica and Japonica type varieties released in China from 2000 to 2014. Frontiers in Plant Science 8: 1863 pp.

Gholizadeh Ghara, A., Nematzadeh, G., Bagheri, N. A., Ebrahimi, A., and Oladi, M. 2012. Evaluation of general and specific combining ability in parental lines of hybrid rice. International Journal of Agriculture: Research and Review 2 (4): 455-460.

IRRI. 2013. Standard evaluation system for rice. 5th edition. The International Rice Research Institute. 65 pp.

Karbalaei, M. T., Valizadeh, A., Sattari, M., Nasiri, M., Bahrami, M., Noori, M. Z.,

Fallah, A., and Nematzadeh, G. A. 2007. Hybrid rice cultivation of Bahar1. Extensian Magazine No. 86/333. Management Coordination of Agricultural Extension in Mazandaran Province. 14 pp. (in Persian).

Kiani, G. 2012. Diversity assessment among some restorer lines using agronomic traits in rice (*Oryza sativa* L.). Biharean Biologist 6 (1):1-4.

Mohadesi, A. 2010. Introduction of new rice variety with good cooking quality (Shiroodi). Final Reports of the Research Projects. Deputy Rice Research Institute of Iran, Amol, Iran. 32 pp. (in Persian).

Mohana Priyanka, R. M., Thiyagarajan, K., Pechiappan Bharathi, S., and Rajendran. R. 2016. Identification of restorers and maintainers among the locally adapted genotypes for hybrid development in rice (*Oryza sativa* L.). Electronic Journal of Plant Breeding 7(3): 814-819.

Nematzadeh, G. A., and Kiani. G. 2010. Genetic analysis of fertility restoration genes for WA type cytoplasmic male sterility in Iranian restorer rice line DN-33-18. African Journal of Biotechnology 9 (38): 6273-6277.

Nematzadeh, G. A., Oladi, M., Kiani, G., Hajipour, A., and Hashemi, A. S. 2010. Release of new rice variety "Pardis" via classical method. Journal of Crop Breeding 2 (6) :16-25

Nematzadeh, G. A., and Sattari, M. 2003. A study of nucleus genome of some sigh yielding rice (*Oryza sativa* L.) varieties for application in hybrid rice technology. Iranian Journal of Agriculture Science 34 (1): 213-219 (in Persian).

Nematzadeh. G. A., and Valizadeh. A. 2003. Hybrid rice breeding. Mazandaran university Publisher. 202 pp (in Persian).

Nematzadeh, G. A., Juhar, A. A., Sattari, M., Valizadeh, A., Alinejad, E., and Nouri, M. Z. 2006. Relation between different allogamic associated trait characteristics of the five newly developed cytoplasmic male sterile (CMS) lines in rice. Journal of Central European Agriculture 7 (1): 49-56.

Sadeghi, A., Ahmadikha, A., and Farsi, M. 2014. Study on the effect of *Rf3* gene for fertility restoration to rice in genetic background of Neda-A line. Journal of Agricultural Biotechnology 6 (1): 139-152.

Sharma, S. K., Singh, S. K., Nandan, R., and Kumar, M. 2012. Identification of restorers and maintainers for CMS lines of rice (*Oryza sativa* L.). Indian Journal of

Plant Genetic Resources 25 (2): 186-188.

Singh, A. K., Revathi, P., Pavani, M., Sundaram, R. M., Senguttuvel, P., Kemparaju, K. B., Hari Prasad, A.S., Neeraja, C.N., Sravan Raju, N., Kotewara Rao, P., Suryendra, P. J., Jayaramulu, K., and Viraktamath, B. C. 2014. Molecular screening for fertility restorer genes *Rf3* and *Rf4* of WA-CMS and evaluation of F1 hybrids in rice (*O. sativa* L.). Journal of Rice Research 7 (1&2): 25-35.

Tarang, A., and Bakhshipour, S. 2015. Yield and agronomic traits of hybrid rice promising lines and cultivars. Agroecology Journal 11 (3): 11- 21 (in Persian).

Teng, L. S., and Shen, Z. T. 1994. Inheritance of fertility restoration for cytoplasmic male sterility in rice. Rice Genetics News 11: 95-97.

Toriyama, K., and Kazama, T. 2016. Development of cytoplasmic male sterile IR24 and IR64 using CW-CMS/*Rf17* system. Rice 9 (1): 22.

Virmani, S. S., Viraktamath, B. C., Casal, C. L., Toledo, R. S., Lopez, M. T., and Manalo, J. O. 1997. Hybrid rice breeding manual. International Rice Research Institute. 194 pp.

Li, S., Yang, D., and Zhu. Y. 2007. Characterization and use of male sterility in hybrid rice breeding. Journal of Integrative Plant Biology 49 (6): 791-804.

Yuan, L. 2014. Development of hybrid rice to ensure food security. Rice Science 21 (1): 1−2.

Zhu, D., Zhang, H., Guo, B., Xu, K., Dai, Q., Wei, C., Zhou, G., and Huo, Z. 2017. Physicochemical properties of indica-japonica hybrid rice starch from Chinese varieties. Food Hydrocolloids 63: 356-363.